

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)

09/890969
JC05 Rec'd PCT/PTO 08 AUG 2001

22278 U.S. PTO
09890969



DOCKET NO.: 211815 US

080801

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: LUU Bang et al.

SERIAL NO.: NEW U.S. PCT APPLICATION

FILED: HEREWITH

INTERNATIONAL APPLICATION NO.: PCT/JP00/00742

INTERNATIONAL FILING DATE: February 10, 2000

FOR: PREVENTIVE AND THERAPEUTIC DRUG FOR NEURODEGENERATIVE DISEASE

**REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119
AND THE INTERNATIONAL CONVENTION**

Assistant Commissioner for Patents
Washington, D.C. 20231

Sir:

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicant claims as priority:

COUNTRY	APPLICATION NO	DAY/MONTH/YEAR
Japan	11-033312	10 February 1999
Japan	11-180546	25 June 1999

Certified copies of the corresponding Convention application(s) were submitted to the International Bureau in PCT Application No. PCT/JP00/00742. Receipt of the certified copy(s) by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.

Respectfully submitted,
OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,
MAIER & NEUSTADT, P.C.

Norman F. Oblon
Attorney of Record
Registration No. 24,618
Surinder Sachar
Registration No. 34,423



22850

(703) 413-3000
Fax No. (703) 413-2220
(OSMMN 1/97)



PCT/JP 00/00742

09/890969

10.02.00

REC'D 31 MARS 2000
WIPO
PCT

JP 00/742
EV
日本特許
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 1999年 2月 10日

出願番号
Application Number: 平成11年特許願第033312号

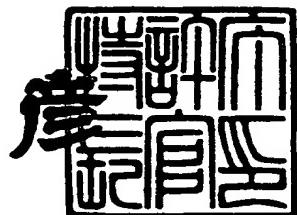
出願人
Applicant(s): 明治乳業株式会社

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 3月 17日

特許長官
Commissioner,
Patent Office

近藤 隆



出証番号 出証特2000-3016145

【書類名】 特許願
【整理番号】 P99001
【提出日】 平成11年 2月10日
【あて先】 特許庁長官 殿
【発明者】
【住所又は居所】 フランス国 F-67084 ストラスブール、リュ・
ブレイズ パスカル5
【氏名】 バン リュー
【発明者】
【住所又は居所】 フランス国 F-67084 ストラスブール、リュ・
ブレイズ パスカル5
【氏名】 ガビー シュミット
【発明者】
【住所又は居所】 フランス国 F-67084 ストラスブール、リュ・
ブレイズ パスカル5
【氏名】 フローレンス キーリング
【発明者】
【住所又は居所】 フランス国 F-67084 ストラスブール、リュ・
ブレイズ パスカル5
【氏名】 セリーヌ ジルランダ
【発明者】
【住所又は居所】 東京都墨田区緑1丁目26番11号 明治乳業株式会社
栄養・医薬開発部内
【氏名】 山田 昌司
【発明者】
【住所又は居所】 東京都墨田区緑1丁目26番11号 明治乳業株式会社
栄養・医薬開発部内
【氏名】 須磨 幸恵

【特許出願人】

【識別番号】 000006138

【氏名又は名称】 明治乳業株式会社

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 059101

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

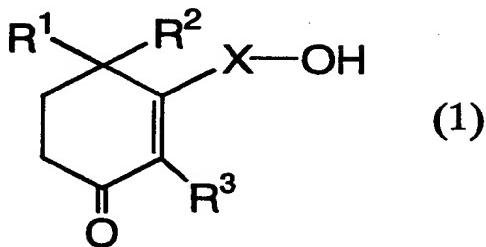
【書類名】明細書

【発明の名称】神経変性疾患の予防または治療薬

【特許請求の範囲】

【請求項1】下記一般式(1)

【化1】



[式中、R¹、R²及びR³はそれぞれ水素原子またはメチル基を表し、Xは側鎖として炭素数10～10のアルキル基を有していてもよい炭素数10～18の直鎖状のアルケン基またはアルケニレン基を表す]
で表されるシクロヘキセノン長鎖アルコール化合物を有効成分とする、神経変性疾患の予防または治療薬。

【請求項2】神経変性疾患が筋萎縮性側索硬化症である請求項1に記載の神経変性疾患の予防または治療薬。

【請求項3】請求項1に記載のシクロヘキセノン長鎖アルコール化合物を有効成分とするスーパオキシドジスムターゼ遺伝子変異による障害抑制薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、シクロヘキセノン長鎖アルコールを有効成分とする神経変性疾患の予防または治療薬、およびスーパオキシドジスムターゼ遺伝子変異による障害抑制薬に関する。

【0002】

【従来の技術】

神経変性疾患の代表的なものには、大脳皮質を主座とするアルツハイマー病やピック病 (Pick) など、大脳基底核を主座とするパーキンソン病やハンチントン病など、小脳を主座とする脊髄小脳変性症、脊髄を主座とする筋萎縮性側索硬化症などがある。神経変性疾患の定義は教科書でも正面きって取り上げているものは少ない。あえて定義するとすれば、ある系統（例えば、錐体路系、後索系、脊髄小脳系など）の障害が単独で、あるいはそれらが組み合わさった臨床症状として、じわじわと緩慢に発現し進行する疾患であり、かつその真の原因が不明なものを神経変性疾患と総称する〔金澤一郎：最新内科学大系，68：p.3，中山書店(1997)〕。

【0003】

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis : ALS) は、皮質、脳幹、および脊髄の運動ニューロン (motor neuron) の選択的障害によって特徴づけられる致死的な神経性疾患で、進行性の筋萎縮と深部腱反射の亢進などを主症状とする。最近、家族性ALS (familial amyotrophic lateral sclerosis : FALS) や孤発性ALS (SALS) の一部について、その原因遺伝子として、フリーラジカルスカベンジャーであるCu/Znスーパーオキシドダブルイソマーゼ (superoxide dismutase : SOD) 遺伝子の点突然変異が相次いで報告され注目を集めている (Deng, H. et al. : Science, 261 : 1047-1051, 1993; Rosen, DR. et al. : Nature, 363 : 59-62, 1993; Jones, CT. et al. : Lancet, 342 : 1050-1061, 1993)

【0004】

ALSの治療に、神経保護剤（抗酸化剤および抗興奮剤）や神経再生剤（neuroregenerative）（神経栄養因子）が試みられているが、非常に弱い効果しか認められていない。すなわち、米国のバイオ企業が、毛様体由来神経栄養因子 (ciliary neurotrophic factor: CNTF) 、インスリン様増殖因子 (insulin growth factor-1: IGF-1) 、脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor: BDNF) 、および神経成長因子 (nerve growth factor: NGF) の、ALSに対する効果を

調べた多くの研究結果について、言及されるべきである。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、新規な神経変性疾患の予防または治療薬を提供することを課題とする。また、本発明は、SOD遺伝子変異による障害を抑制する薬を提供することを課題とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】

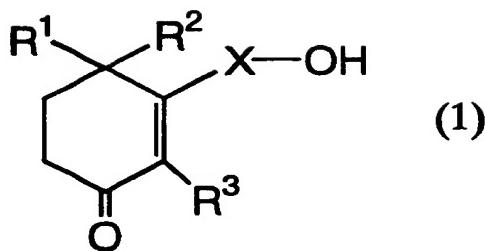
本発明者らは、すでに、シクロヘキセノン骨格を有する長鎖アルコールが、優れた神経突起進伸展能を有し、神経成長因子として、有用性が期待されることから、特許を出願している（PCT/JP98/03560）。その後、本発明者らは、Cu/Zn SOD-1遺伝子のミスセンス変異を有するトランスジェニックマウスに該化合物を投与すると、対照群に比較して、生存期間が150%以上延長すること、さらにまた、該化合物が、SOD-1変異遺伝子の過剰発現による運動ニューロンの変性に起因する該トランスジェニックマウスの寿命の低下を抑制する作用を有することを見出し、結果、該化合物が、神経変性疾患、とりわけ、ALSの予防・治療薬として有用であるとして、本発明を完成した。

【0007】

すなわち、本発明は、

- (1) 下記一般式 (1)

【化2】



[式中、R¹、R²及びR³はそれぞれ水素原子またはメチル基を表し、Xは側鎖として炭素数10～10のアルキル基を有していてもよい炭素数10～18の直鎖状のアルケン基またはアルケニレン基を表す]

で表されるシクロヘキセノン長鎖アルコール化合物を有効成分とする、神経変性疾患の予防または治療薬を提供する。

【0008】

(2) また、本発明は、神経変性疾患が筋萎縮性側索硬化症である(1)に記載の神経変性疾患の予防または治療薬を提供する。

【0009】

(3) さらにまた、本発明は、(1)に記載のシクロヘキセノン長鎖アルコール化合物を有効成分とするスーパオキシドジスムターゼ遺伝子変異による障害抑制薬を提供する。

【0010】

【発明の実施の形態】

本発明のシクロヘキセノン長鎖アルコール化合物の合成は、本発明者らによる特許出願(PCT/JP98/03560)に記載の方法にしたがって実施することができる。

【0011】

上記一般式(1)において、炭素数1～10の側鎖アルキル基としては、例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、

sec-ブチル基、tert-ブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、ネオペンチル基、tert-ペンチル基、ヘキシル基、イソヘキシル基、ヘプチル基、オクチル基、ノニル基、デシル基、などが挙げられるが、シクロヘキセノン骨格を有し、かつ、神経突起進展促進活性およびSOD遺伝子変異による障害の抑制活性を有する化合物であればこれら置換基に限定されない。本発明においては、好ましい置換基はメチル基である。アルキレン基またはアルケニレン基（少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を有するアルケン構造を意味する）への置換は、3及び/又は7位が好ましく、置換方法は当業者公知の方法で容易に実施可能である。

【0012】

また、本発明の化合物は、薬学的に許容される塩、またはその溶媒もしくは水和物の形態であってもよい。また本発明の化合物には、各種の異性体が存在し得るが、これらの異性体も本発明に含まれる。

【0013】

上記したように、FALSやSALSの一部に、Cu/Zn SOD (SOD-1) の変異が見出されていることから、マウスSOD-1遺伝子に、FALSの遺伝子に見出される変異の一つに対応するミスセンス変異を導入したトランスジェニックマウスを用いて、シクロヘキセノン長鎖アルコール化合物投与による、該トランスジェニックマウスの生存期間延長効果を調べた。本発明の化合物を該トランスジェニックマウスに投与した群の生存期間は、対照群のそれに対して、150%以上延長した（表1参照）。

【0014】

該トランスジェニックマウスは、マウスSOD-1遺伝子の第四エクソン中のGly-86をArgに変異 (G86R) させたマウス (Michael,E.R.et al.: Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.92:689-693,1995) である。該トランスジェニックマウスの中枢神経系での該変異遺伝子の過剰発現は、脊髄、脳幹、および新皮質の運動ニューロンの退行性の変性に伴う、年令関連の急速な進行性の運動機能の低下と関連している (Michael,E.R.et al.: Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.92:689-693,1995)。一部のFALS患者は、該トランスジェニックマウスと同様の遺伝子変異が原因とされているため、ALS疾患のモデルの一つである。

【0015】

本発明で用いたトランスジェニックマウスは、Cu/Zn SOD-1をコードする遺伝子にミスセンス変異 (G86R) を導入したマウスで、このALSにリンクした変異体の過剰発現によって、ALS患者に観察されるのに類似する運動ニューロンの変性が進行し、麻痺のため、生存後90±5日で死亡する。

【0016】

本発明の化合物が、該トランスジェニックマウスの生存期間を大幅に延長させる機序は、現在のところ不明であるが、本発明の実験結果は、本発明の化合物が、SOD変異遺伝子の発現による障害の予防または治療に有用であることを期待させる。

【0017】

また、本発明の化合物は、胎児ラット大脳半球由来ニューロンに対し、優れた神経突起伸展効果を示し、とりわけ、化合物番号9、10、20、23、および24は、bFGFに比較して、極めて優れた神経突起伸展効果を示す（表2参照）。

【0018】

すなわち、本発明の化合物は、SOD遺伝子変異による障害を抑制する作用を有し、また、神経細胞に直接作用して、神経突起伸展促進などの神経栄養因子効果を示すので、SOD遺伝子変異による障害、あるいは神経変性疾患の予防または治療に有用である。

【0019】

本発明の化合物は、経口投与または非経口投与（筋肉内、皮下、静脈内、坐薬など）のいずれでも投与できる。

【0020】

経口用製剤を調製する場合、賦形剤、さらに必要に応じて、結合剤、崩壊剤、滑潤剤、着色剤、矯味矯臭剤などを加えた後、常法により、錠剤、被服錠剤、顆粒剤、カプセル剤、溶液剤、シロップ剤、エリキシル剤、油性または水性の懸濁液剤などとする。賦形剤としては、例えば、乳糖、コーンスターク、白糖、ブドウ糖、ソルビット、結晶セルロースなどが挙げられる。結合剤としては、例えば、ポリビニルアルコール、ポリビニルエーテル、エチルセルロース、メチルセル

ロース、アラビアゴム、トラガント、ゼラチン、シェラック、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルスター、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。

【0021】

崩壊剤としては、例えば、デンプン、寒天、ゼラチン未、結晶セルロース、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、クエン酸カルシウム、デキストラン、ペクチンなどが挙げられる。滑沢剤としては、例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ポリエチレングリコール、シリカ、硬化植物油などが挙げられる。着色剤としては、医薬品に添加することが許可されているものがしようできる。矯味剣としては、ココア未、ハッカ脳、芳香酸、ハッカ油、竜脳、桂皮未などができる。これらの錠剤は、顆粒剤には、糖衣、ゼラチン衣、その他必要により適宜コーティングしてもよい。

【0022】

注射剤を調製する場合、必要により、pH調製剤、緩衝剤、安定化剤、保存剤などを添加し、常法により、皮下、筋肉内、静脈内注射剤とする。注射剤は、溶液を容器に収納後、凍結乾燥などによって、固体製剤として、用事調製の製剤としてもよい。また、一投与量を容器に収納してもよく、また、多投与量を同一の容器に収納してもよい。

【0023】

本発明の化合物の医薬としての投与量は、ヒトの場合、成人1日当たり通常0.01～1000mg、好ましくは、0.1～100mgの範囲で、1日量を1日1回、あるいは2～4回に分けて投与する。

【0024】

【実施例】

以下、実施例により本発明を説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

【0025】

実施例1

以下に、本発明者らによる特許出願（PCT/JP98/03560）に記載の方法にしたが

って合成したシクロヘキセノン長鎖アルコール化合物の例を表1に示す

【表1】

化合物番号	X	R ¹	R ²	R ³
1	(CH ₂) ₁₀	H	H	H
2	(CH ₂) ₁₁	H	H	H
3	(CH ₂) ₁₂	H	H	H
4	(CH ₂) ₁₃	H	H	H
5	(CH ₂) ₁₄	H	H	H
6	(CH ₂) ₁₀	H	CH ₃	H
7	(CH ₂) ₁₁	H	CH ₃	H
8	(CH ₂) ₁₂	H	CH ₃	H
9	(CH ₂) ₁₃	H	CH ₃	H
10	(CH ₂) ₁₄	H	CH ₃	H
11	(CH ₂) ₁₀	CH ₃	CH ₃	H
12	(CH ₂) ₁₁	CH ₃	CH ₃	H
13	(CH ₂) ₁₂	CH ₃	CH ₃	H
14	(CH ₂) ₁₃	CH ₃	CH ₃	H
15	(CH ₂) ₁₄	CH ₃	CH ₃	H
16	(CH ₂) ₁₀	H	H	CH ₃
17	(CH ₂) ₁₁	H	H	CH ₃
18	(CH ₂) ₁₂	H	H	CH ₃
19	(CH ₂) ₁₃	H	H	CH ₃
20	(CH ₂) ₁₄	H	H	CH ₃
21	(CH ₂) ₁₂	CH ₃	CH ₃	CH ₃
22	(CH ₂) ₁₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃
23	(CH ₂) ₁₄	CH ₃	CH ₃	CH ₃
24	(CH ₂) ₁₅	CH ₃	CH ₃	CH ₃
25	(CH ₂) ₁₆	CH ₃	CH ₃	CH ₃

試験例1. 変異SOD-1遺伝子を発現するトランスジェニックマウスの生存試験

10匹のトランスジェニックマウスで実施した。該トランスジェニックマウスは、マウスSOD-1遺伝子の第四エクソン中のGly-86をArgに変異 (G86R) させたマウス (Michael,E.R.et al.: Proc.Natl.Acad.Sci.USA.92:689-693,1995) である。5匹は、生理食塩水、5匹は、エタノール/Tween 80/生理食塩水 (8/10/82) に溶解した化合物10 [3-(14-ヒドロキシテトラデシル)-4-メチル-2-シクロヘキセン-1-オン] 、2 mg/kgを40日間連続腹腔内投与 (i.p.) 投与した。1匹は、injection complicationのため90日前に死んだ。残りの4匹は、150日後に死んだ。

対照のマウスは全て90日頃に死んだ。生存期間の延長は、150%以上であった。
この値は有意性が高かった。

【0026】

試験の間、化合物10を投与したマウスは、全例非常に活動的であったが、対照群では、非常に病的で、60日後には、適切に動くことができなかった（表2）。

【0027】

試験例2. 神経突起伸展効果

胎児ラット大脳半球ニューロン（13～15日）を用いた。該ニューロン細胞の培養は、Borgらの方法（Borg, J., et al.: Dev. Brain Res., 18 : 37, 1985）に準じて実施した。バラバラにした細胞 1.5×10^5 を、ポリリジンでコートした35mmディッシュにまき、DMEM（インスリン、トランスフェリン、プロゲステロン、セレン酸ナトリウム、およびブテスシンを添加）3mlを加えた。本発明の化合物（表2）は、エタノールで $1 \times 10^{-8}M$ になるように溶解して加えた。細胞は、3日間培地交換なしで培養した。その後、細胞を、2%グルタルアルデヒドを含むPBSで固定し、位相差顕微鏡で観察した。結果を表2に示す。

【表2】

化合物番号	神経突起伸長効果
8	+++
9	++++
10	++++
12	++
13	+++
14	+++
15	+++
18	++
19	+++
20	++++
22	++
23	+++
24	++++
bFGF	++
陰性対照	0

0 : 効果なし、+ : わずかに効果あり、++ : やや効果あり、
 +++ : 強い効果あり > 160%、++++ : 極めて強い効果あり > 200%

【0028】

【発明の効果】

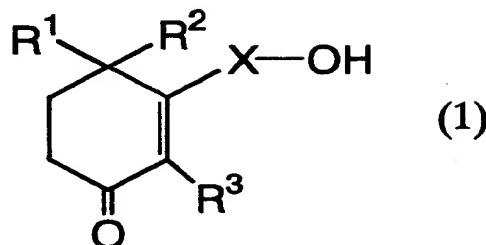
本発明化合物(1)は、優れた神経突起伸展効果を有し、また、SOD遺伝子変異による障害を抑制する作用を有するので、神経変性疾患、とりわけ、筋萎縮性側索硬化症の予防または治療薬として有用であり、また、SOD変異遺伝子変異による障害を抑制する薬として有用である。

【書類名】要約書

【要約】

【解決手段】式(1)

【化1】



[式中、R¹、R²及びR³はそれぞれ-Hまたは-CH₃を表し、XはC₁～C₁₀のアルキル基で置換されていてもよいC数10～18のアルキレン基またはアルケニレン基を表す]

で表されるシクロヘキセノン長鎖アルコール化合物を有効成分とする、神経変性疾患の予防または治療薬。

【効果】本発明化合物(1)は、優れた神経突起伸展効果を有し、また、SOD遺伝子変異による障害を抑制する作用を有するので、神経変性疾患、とりわけ、筋萎縮性側索硬化症の予防または治療薬として有用であり、また、SOD変異遺伝子変異による障害を抑制する薬として有用である。

【選択図】 なし

【書類名】 手続補正書

【整理番号】 P99008

【提出日】 平成11年 4月16日

【あて先】 特許庁長官 殿

【事件の表示】

【出願番号】 平成11年特許願第 33312号

【補正をする者】

【識別番号】 000006138

【氏名又は名称】 明治乳業株式会社

【代表者】 中山 悠

【発送番号】 011875

【手続補正 1】

【補正対象書類名】 特許願

【補正対象項目名】 特許出願人

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【特許出願人】

【識別番号】 000006138

【住所又は居所】 東京都中央区京橋2丁目3番6号

【氏名又は名称】 明治乳業株式会社

【代表者】 中山 悠

出願人履歴情報

識別番号 [000006138]

1. 変更年月日 1990年 8月14日
[変更理由] 新規登録
住 所 東京都中央区京橋2丁目3番6号
氏 名 明治乳業株式会社